

Evaluación fungicida y antitérmica preliminar del líquido piroleñoso

Sayra Navas¹

El ataque de hongos e insectos en el bosque y en los patios de madera produce gran destrucción de la misma.

Palabras claves

Líquido piroleñoso, carbonización, carbón vegetal, preservación de madera, propiedades.

Resumen

Este estudio se realizó con el propósito de obtener parte de la información necesaria para evaluar el uso potencial del líquido piroleñoso, que se produce como subproducto de la carbonización en la madera, en el proceso de la preservación de la madera.

Se evaluaron propiedades fungicidas y antitérmicas del líquido piroleñoso.

Con respecto de las propiedades fungicidas, pruebas micológicas *in vitro* parecen indicar un adecuado nivel de toxicidad del líquido piroleñoso frente a hongos pudridores de madera, similar al encontrado en informes de la literatura. A pesar de que también se realizaron pruebas *in vivo*, para evaluar la eficiencia fungicida del líquido piroleñoso, no se logró concluir sobre su nivel de toxicidad con base en esas pruebas, debido a un problema de contaminación.

Con respecto de las propiedades antitérmicas, se demostró que la protección al ataque de insectos de muestras de madera preservada con líquido piroleñoso mediante el método de baño caliente y frío, fue regular.

Introducción

Pudrición de la madera

El ataque de hongos e insectos en el bosque y en los patios de madera produce gran destrucción de la misma. Las diferentes especies de madera exhiben una amplia variación en su resistencia al ataque. Aunque ninguna madera nativa es inmune, algunas de ellas poseen una durabilidad superior. Bajo condiciones favorables para el ataque, la albura de todas las especies nativas es susceptible al ataque pero el duramen lo es en general en menor grado, principalmente debido a la presencia de los extractivos: sustancias como aceites esenciales, taninos y compuestos fenólicos. Otros factores que contribuyen a la durabilidad del duramen pueden ser: más bajo contenido de humedad, pobre penetrabilidad y bloqueo de las cavidades celulares por gomas y resinas.

1 Docente del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Catedrática de la Escuela de Química.

Hongos

Los hongos que se encuentran en la madera se dividen en dos grupos: los hongos destructores de madera, que atacan y desintegran la pared celular para alimentarse y las manchas de madera o mohos, los cuales utilizan materiales alimenticios almacenados en las cavidades celulares y tienen muy poco efecto desintegrante.

Hongos destructores de la madera

Aunque existe una amplia variedad de hongos capaces de producir podredumbre, estas son principalmente de dos clases, pudrición blanca y pudrición café, que se diferencian por el color y la naturaleza del ataque durante las etapas iniciales e intermedias de la pudrición. En la pudrición café, los carbohidratos son atacados preferentemente y la lignina es poco afectada. La pudrición blanca o “corrosiva” consume a los carbohidratos y a la lignina.

Carranza y Sáenz (1984) reportan al menos 179 especies de hongos que atacan a la madera en Costa Rica. La selección de los hongos que se emplearon en este estudio se hizo con base en la recomendación de la Dra. Julieta Carranza, de la Universidad de Costa Rica, tratando de que quedaran representados estos tipos de pudrición. Así los hongos *Earliella scabrosa*, *Hexagonia hydroides* y *Trametes versicolor* producen pudrición blanca, mientras que el *Phellinus gilvus* produce pudrición café (Julieta Carranza, comunicación personal).

Insectos

Además de los defoliadores, gorgojos, escarabajos y otros insectos que depredan los árboles, existen muchos insectos barrenadores que causan grandes pérdidas. Algunos de estos barrenadores infectan tanto al árbol vivo como a los árboles muertos y también

dañan trozas de madera, madera aserrada, madera en servicio, etc. La albura y el duramen son igualmente susceptibles, lo mismo que las especies coníferas y latifoleadas. El daño principal se debe al barrenado de las larvas, que produce agujeros pequeños y profundos. Las termitas pueden ser problema en los patios de madera y en los edificios u otras estructuras, debido a que usan la madera como refugio y fuente de alimentación (Browning 1963).

Barrenadores marinos

Los barrenadores marinos son moluscos y crustáceos que viven en agua salada y que producen gran daño en estructuras de madera sumergida, o bien en partes de madera expuestas a ambientes salinos. Algunas maderas tropicales tienen durámenes que son especialmente resistentes al ataque de barrenadores marinos (Browning 1963).

Preservación de la madera

La madera puede ser protegida del ataque de hongos pudridores, de insectos dañinos o de barrenadores marinos, aplicando ciertos productos químicos como preservantes. El grado de protección obtenido depende de la clase de producto empleado y de que se alcancen los grados de penetración y retención adecuados. Algunos son más efectivos que otros, y se adaptan mejor a ciertos requerimientos de uso. La madera puede ser bien protegida sólo cuando las sustancias la penetran; algunos métodos de tratamiento aseguran una mejor penetración que otros. También existe diferencia en las diversas especies de maderas en cuanto a la capacidad de ser tratadas particularmente en su duramen, que generalmente es más difícil de tratar que la albura.

Los buenos preservantes de madera, aplicados con retenciones estándar y con niveles satisfactorios de penetración, aumentan significativamente la vida de las

La madera puede ser protegida del ataque de hongos pudridores, de insectos dañinos o de barrenadores marinos, aplicando ciertos productos químicos como preservantes.

estructuras de madera, frecuentemente unas cinco o más veces. Sobre esta base, el costo anual de la madera tratada en servicio es mucho más bajo que el de la madera similar sin tratamiento (Wood Handbook 1974).

Taylor (1977) señala que, prácticamente en todos los países de Latinoamérica, existe interés en la preservación de la madera, y que la mayoría de las plantas de tratamiento son pequeñas; establecidas para servir mercados de madera aserrada o bien de postes para tendido eléctrico o telefónico.

Tipos de preservantes de madera

Los preservantes de madera se clasifican en dos grandes categorías, los oleosolubles: aceites como la creosota, disoluciones de pentaclorofenol en aceites como el diesel y alquitrán de madera y los acuosolubles: sales solubles en agua que se aplican como disoluciones acuosas (Wood Handbook 1974).

Alquitrán de madera como preservante

La destilación destructiva de la madera o carbonización produce gran variedad de sustancias químicas, entre ellas ácido acético, alcohol de madera, etc. El alquitrán de coníferas ha sido utilizado extensivamente para la preservación de cuerdas y velas de barcos.

También ha sido empleado para tratar heridas de árboles. Por mucho tiempo se ha conocido que es fuertemente antiséptico; en los países desarrollados, se han usado pequeñas cantidades para preservar maderas, algunas veces mezclado con alquitrán de carbón mineral y creosota.

En Estados Unidos la industria de preservación es de gran escala, Gjovik y Micklewright (1982) reportan que provee mercados para más de 500 millones de pies cúbicos de madera, la

cual en su mayoría proviene de árboles de baja calidad, trozas que no son adecuadas para usos de mayor calidad.

En aquellos países en donde la creosota es barata y abundante, es poco probable que el alquitrán de madera sea usado para preservar madera; sin embargo, en países como Costa Rica, donde la creosota debe ser importada y se debe dar el mejor uso posible a todas las materias primas, el alquitrán de madera podría ser utilizado como preservante de maderas (Findlay 1943; Schwartz y Deon 1987; Villeneuve *et al.* 1987).

Schwartz y Deon (1987) estudiaron el uso potencial, en el campo de la preservación de maderas, de alquitranes provenientes de la carbonización de nueces de palmera y de madera. Evaluaron las propiedades fungicidas y antitermíticas y encontraron que estos subproductos pueden darle a la madera una protección medianamente buena. Findlay (1943) concluyó que los alquitranes de madera son altamente tóxicos para los hongos destructores de madera, siendo algunos de ellos aproximadamente igual de efectivos que la creosota a ese respecto. Por lo tanto, se puede considerar oportuno investigar las posibilidades de valorización y utilización de los asfaltos o alquitranes piroleñosos (subproductos de la carbonización de la madera) en el campo de preservación de maderas, ya sea como sustituyente total o parcial de los preservantes oleosolubles sintéticos.

Líquido piroleñoso

El líquido piroleñoso es un mezcla compleja, líquida a temperatura ambiente y poco estable en el tiempo. Generalmente está constituida por dos fases, una acuosa y una orgánica, que se satura una en la otra formando una mezcla líquida heterogénea.

Este líquido es la materia prima más conocida por la alquimia artesanal, razón por la cual, muchos investigadores se han interesado en conocer en detalle su composición. Recientemente ha sido posible describir mejor su compleja composición. Así, diferentes autores, trabajando especialmente con maderas de zonas templadas, han demostrado que la composición de los “líquidos” piroleñosos, varía con la materia prima y con el modo de carbonización. Los productos descritos en la literatura pertenecen a los siguientes tipos de compuestos: alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos, compuestos aromáticos y compuestos heterocíclicos (Santona 1971; Doat y Petroff 1975; Petroff y Doat 1978; Vergnet y Villeneuve 1984).

Vergnet y Villeneuve (1984) mencionan diversos estudios que describen en detalle la composición de diferentes líquidos piroleñosos obtenidos en condiciones particulares.

Los productos identificados pueden ser económicamente interesantes de acuerdo

con su proporción relativa o, al contrario, en términos de lo poco comunes que sean.

Es posible obtener del líquido piroleñoso, ácido acético, y metanol en cantidades no despreciables; el ácido fórmico presente también puede ser de interés. Estos productos son extraídos por destilación del líquido; sin embargo, industrialmente se prefieren los productos de síntesis química debido al alto costo energético de la destilación del líquido piroleñoso y de la rentabilidad marginal en países desarrollados.

En los últimos años, se han realizado proyectos que tienen como objetivo utilizar el metanol y el etanol recuperados, como aditivos de carburantes; sin embargo, las técnicas recomendadas para su obtención son vía pirólisis.

Actualmente, una de las formas de valorización más rentable, es la de recuperar compuestos complejos.

El Cuadro 1 resume los constituyentes mayoritarios presentes en el líquido piroleñoso y su proporción, de acuerdo

Cuadro 1
Constituyentes mayoritarios del líquido piroleñoso (7)

Líquido piroleñoso (40-60 %)			
Acido piroleñoso (35-45 %)		Asfaltos (5-20 %)	
Componente	%	Componente	%
Acetona	0,1-0,15	Monofenoles	0,2-1
Acetato de metilo	0,1-0,3	Guayacol	0,1-1
Acetato de etilo	0,1	Cresol	0,4-1
Metanol	0,5-1	Brea	4-9
Etanol	< 0,5	Resina (pinos resinosos)	20-6
Acido Acético	1-5		
Acido propiónico	< 0,1		
Acido fórmico	< 0,1		
Acidos superiores	< 0,2		

(Todos los valores en % de madera seca)

con el reporte de Vergnet y Villeneuve (1984).

Es importante destacar que, sea cual sea la madera o mezcla de maderas empleadas en la pirólisis, la composición cualitativa del líquido piroleñoso es la misma, o sea, se encuentran los mismos constituyentes. El análisis cuantitativo, sin embargo, revela algunas diferencias puesto que los rendimientos totales en piroleñosos no son idénticos para todas las especies (Petroff y Doat 1978).

Doat y Petroff (1975) concluyeron que la cantidad de ácido acético y de acetato de metilo aumentan cuando la madera carbonizada tiene un alto contenido de pentosanas, mientras que las maderas ricas en lignina producirán menos ácido acético y las maderas ricas en extracto alcohol-benceno producirán menos metanol. Aparentemente las maderas con alto contenido de lignina producirán un rendimiento máximo de guayacol, fenol y cresoles.

Debe señalarse que, además de la utilización de los químicos presentes en el líquido piroleñoso, existen reportes de posibles utilidades menos sofisticada del mismo, como por ejemplo: (Vergnet y Villeneuve 1984; De Castro *et al.* 1982)

- En la producción industrial de energía, los asfaltos pueden ser reinyectados en el circuito de pirólisis.

- En la producción artesanal de energía, la combustión directa de los alquitranes decantados.
- En la preservación de madera por recubrimiento de las piezas a proteger con una mezcla asfalto-aceite quemado.

Estas opciones parecen ser las más viables para un país como Costa Rica, ya que implican el uso, casi inmediato, del líquido piroleñoso. De modo que, estudios sobre utilidades menos sofisticadas de este líquido parecieran ser una aproximación más adecuada al problema del uso de los subproductos de la carbonización.

Definición del problema

Los datos de la Memoria Estadística del Sector Energía (Alvarado 1988), sobre la producción y consumo de carbón vegetal en Costa Rica, así como su equivalente en toneladas métricas, durante los años 84, 85, 86, y 87 aparecen en el Cuadro 2.

La producción total de energía para el año 1987 fue de 69 245 terajoules, de lo cual se deriva que la contribución porcentual de carbón vegetal (0,5%) fue poco significativa. Sin embargo, considerando las políticas del Plan Nacional de Energía, impulsar y desarrollar las tecnologías de producción de carbón vegetal se perfila como una actividad de regular importancia en Costa Rica, en la que participan diferentes empresas públicas y privadas, entre ellas: Coopeindio, Corporación de Desarrollo Forestal (CODEFORSA), Corporación forestal Sarapiquí S.A (COFORSA) Centro Agrícola Cantonal de Hojancha (CACH), Lachner y Sáenz, etc.

De modo que existe, al menos potencialmente, una fuente importante de líquido piroleñoso, rico en

Cuadro 2
Producción y consumo de carbon vegetal

Año	Producción		Consumo	
	TJ	TM	TJ	TM
1984	470	17 273	311	11 430
1985	418	15 362	391	14 370
1986	358	13 157	358	13 157
1987	384	13 745	374	13 745

Nota: Los datos de toneladas métricas se calcularon empleando el valor equivalente de 27,21 tj / 1 000 tm (14)

El líquido piroleñoso empleado en este estudio es un producto comercial que se vende como preservante y que proviene de la carbonización en hornos de colmena de 13 metros cúbicos de capacidad, de especies de la zona norte de Costa Rica como: pilón, siete cueros, yema de huevo y laurel.

compuestos químicos, cuya utilización en la actualidad es prácticamente nula.

Considerando la dificultad de separar los compuestos químicos presentes en el líquido piroleñoso, el alto costo de los preservantes sintéticos oleosolubles, y dado que existen reportes sobre el uso de la fracción orgánica del líquido piroleñoso (aceite piroleñoso) como agente preservante (Browning 1963; Findlay 1943; Villeneuve *et al.* 1987; Nobles 1945) se considera oportuno evaluar las características preservantes y la estabilidad del aceite piroleñoso obtenido por pirólisis de madera.

Por lo anterior, en este estudio se evaluarán en forma preliminar la eficiencia fungicida y la eficiencia antitermítica del aceite piroleñoso.

Materiales y métodos

Materiales

Los materiales empleados en este estudio incluyen:

- El líquido piroleñoso, cuyas eficiencia fungicida y eficiencia antitermítica, fueron evaluadas.
- Los hongos pudridores de madera que se emplearon en experimentos *in vitro* e *in vivo* para evaluar la eficiencia fungicida del líquido piroleñoso.
- Las maderas de prueba que se emplearon en los experimentos *in vivo* de eficiencia fungicida.
- Las termitas que se emplearon en las pruebas de eficiencia antitermítica del líquido piroleñoso.

Líquido Piroleñoso

El líquido piroleñoso empleado en este estudio es un producto comercial que se vende como preservante y que proviene de la carbonización en hornos de colmena de 13 metros cúbicos de capacidad, de especies de la zona norte

de Costa Rica como: pilón, siete cueros, yema de huevo y laurel. Este líquido tuvo un período de almacenamiento de, al menos, 18 meses.

En contraste con informes de la literatura que describen la separación por centrifugación de la fracción orgánica y del agua del líquido piroleñoso, en este estudio se empleó el líquido piroleñoso tal como se obtiene de la carbonización y tal como se vende, como una emulsión de los componentes orgánicos y del agua.

Hongos pudridores de madera

Carranza y Sáenz (1984) mencionan que en la literatura se ha informado sobre 179 especies de hongos que atacan a la madera en Costa Rica. De esas especies, 108 pertenecen a la familia Polyporaceae, sobre la cual se han realizado muy pocos estudios.

Colecta de hongos

Con base en la recomendación original de la Dra. Julieta Carranza de la Universidad de Costa Rica, sobre la selección de hongos, se trató de coleccionar muestras de los siguientes cuatro hongos: *Earliela scabrosa*, *Hexagonia hydnoides*, *Trametes versicolor*, y *Phellinus gilvus*, pero solo dos de esos hongos fueron colectados: *Hexagonia hydnoides* y *Phellinus gilvus*. Además, se colectaron otras especies importantes de hongos destructores de madera. (Cuadro 4).

Dadas las dificultades de coleccionar y aislar los hongos originalmente planeados, se decidió, con la asesoría de la Dra. Carranza, trabajar con los siguientes hongos, que sí se pudieron coleccionar y aislar;

- *Coriopsis polizona*
- *Fomitella supina*
- *Pycnoporus sanguineus*
- *Trametes villosa*
- *Laetiporus sulphureus*

Las maderas de prueba para evaluar la eficiencia fungicida del líquido pireleñoso

Con el propósito de cubrir un ámbito de maderas desde poco resistentes hasta muy resistentes al ataque de hongos pudridores, se emplearon las muestras de las especies mencionadas en el Cuadro 3.

Cuadro 3

Nombre científico y común de las especies de madera empleadas

Nombre científico	Nombre común	Categoría
Tectona grandis	Teca	Muy resistente
Cordia alliodora	Laurel	Resistente
Alnus acuminata	Jaúl	Poco resistente
Ceiba pentandra	Ceiba	Muy poco resistente

Considerando la diferencia en resistencia entre la albura y el duramen que exhiben las especies de resistentes a muy resistentes (Gilbertson y Ryvardeen 1987), en los casos de teca y laurel se evaluaron la albura y el duramen separadamente. El jaúl y la ceiba se evaluaron sin diferenciar.

Termitas empleadas en las pruebas de eficiencia antitermítica del líquido pireleñoso

Las termitas fueron colectadas en piezas de madera en servicio de la zona de Turrialba, incluyendo “obreros” y “soldados”. Desafortunadamente, los “soldados” no sobrevivieron las condiciones del laboratorio.

Métodos

Los métodos empleados en este estudio incluyen:

- Métodos de colecta, identificación y aislamiento de los hongos pudridores de madera
- Métodos para evaluar la eficiencia fungicida del líquido pireleñoso.

- Método para evaluar la eficiencia antitermítica del líquido pireleñoso.

Métodos de colecta, identificación y aislamiento de los hongos pudridores de madera

Colecta de los hongos

Los sitios de colecta generalmente se ubicaron en el cantón de Turrialba, una de las zonas recomendadas por la Dra. Carranza.

Para realizar la colecta se procedió de la siguiente manera; se realizó una inspección general del sitio, para observar el espécimen, tomando en cuenta su abundancia y el sustrato donde se encontraba, ya fuera un árbol vivo, o un tronco o ramas en descomposición. Más tarde con una cuchilla se cortaba el hongo de manera que trajera consigo un trozo de sustrato y se colocaba en una bolsa de papel identificada con un número de muestra y con la fecha de colecta. En todos los casos se anotaron las siguientes características: tipo de sustrato, sitio donde se realizó la colecta, fecha y el número establecido de muestra. Las muestras, en bolsas de papel, se colocaron en una bolsa de plástico grande, y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio para identificarlas. La identificación fue realizada por la Dra. Carranza de la Universidad de Costa Rica.

En el Cuadro 4 aparecen los hongos colectados, su número de colecta (número de muestra y colecta), fecha, tipo de sustrato y sitio donde fue colectado.

Aislamiento de los hongos pudridores de la madera

Preparación de medios de cultivo

La preparación de los medios de cultivo es estándar e incluye cuatro etapas:

- Determinación de la masa de los componentes del medio de cultivo.

- Disolución en la cantidad requerida de agua destilada.
- Distribución del medio en cajas de Petri o tubos de ensayo.
- Esterilización.

Debido a que los medios se preparan para el crecimiento de hongos en cultivos puros, todos los microorganismos, excepto el que va a crecer, se deben excluir. Para esto es necesario esterilizar el medio en una autoclave por 15 ó 20 minutos a 125°C y 103 kilopascales de presión. Toda la cristalería incluyendo las

cajas de Petri, deben esterilizarse en una autoclave. El llenado (chorreado) de las cajas de Petri debe llevarse a cabo en condiciones estrictas de limpieza. Se colocan las cajas de Petri en la mesa, luego se toma el Erlenmeyer u otro recipiente que contiene el medio de cultivo, se le quita el algodón (tapón), se pasa la abertura del Erlenmeyer por la llama de un mechero o lámpara de alcohol; se levanta un lado de la caja de Petri justamente lo necesario para insertar la apertura del recipiente y vaciar el medio en la caja; se tapa

Cuadro 4
Resumen de los datos de los hongos colectados según su número de colecta, fecha, sustrato y localidad

Hongo	# Colecta	Fecha	Sustrato	Localidad
<i>Corioloopsis cirrifer</i>	1 - 89	7-10-89	Sobre "chancho colorado" en descomposición	Turrialba, Centro
<i>Trametes villosa</i>	2 - 89	21-10-89	Sobre angiosperma en descomposición	Cafetales La Margot Turrialba
<i>Trichaptum byssogenum</i>	3 - 89	21-10-89	Sobre angiosperma en descomposición	Cafetales La Margot Turrialba
<i>Corioloopsis polyzona</i>	4 - 89	21-10-89	Sobre angiosperma en descomposición	Hacienda Azul, Turrialba
<i>Rigidoporus microporus</i>	5 - 89	21-10-89	Sobre angiosperma en descomposición	Hacienda Azul, Turrialba
<i>Hexagonia hydnooides</i>	6 - 89	27-10-89	Sobre angiosperma en descomposición	Distrito Santa Teresita; Turrialba
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	7 - 89	8-11-89	Sobre angiosperma en descomposición	Hacienda El Torito; Turrialba
<i>Fomitella supina</i>	8 - 89	8-11-89	Sobre eucalipto vivo y troncos muertos	Hacienda El Torito; Turrialba
<i>Lenzites elegans</i>	11 - 90	25-2-90	Sobre angiosperma en descomposición	Localidad de Guayabo Turrialba
<i>Phellinus gilvus</i>	12 - 90	25-2-90	Sobre angiosperma en descomposición	Localidad de Guayabo Turrialba
<i>Laetiporus* sulphureus</i>	191 - 86	19-8-86	Creciendo sobre eucalipto vivo	Ciudad Universidad Rodrigo Facio. San Pedro; San José

* Este hongo debió ser tomado del laboratorio de Micología de la Universidad de Costa Rica. La muestra es propiedad del Herbario de la Escuela de Biología y fue cedida amablemente por la Dra. Carranza debido a que fue totalmente imposible colectar un hongo que produjera "podredumbre café"; todos los hongos colectados producían "podredumbre blanca". La muestra de este hongo (191-86) fue cedido sin aislar; es decir, se debió trabajar con él igual que se trabajó con las demás muestras.

inmediatamente y se mueve para que el agar cubra todo el fondo. Antes de usar las cajas de Petri, se dejan enfriar hasta que el medio endurezca.

Medios de cultivo utilizados

Para el aislamiento de los hongos se utilizaron dos tipos de medio de cultivo.

Inicialmente se preparó el siguiente:

- Agar	15 g
- Malta	20 g
- Agua destilada	1000 ml
- Benomil	5 mg
- Cefalexina	1 cápsula

Este medio contiene la cefalexina como antibiótico de amplio espectro para evitar el desarrollo de bacterias y el benomil como fungicida para evitar el crecimiento de hongos imperfectos que inhiben a los basidiomycetes (hongos de podredumbre).

Durante el segundo mes, fue necesario cambiar el antibiótico a ampicilina, ya que se dio una proliferación de bacterias. Los antibióticos además de bactericidas, poseen un amplio espectro antifúngico (Tsao 1970). A pesar de esa gran cantidad de bacterias y de las características antifúngicas de los antibióticos uno de los hongos: el *Trametes villosa* logró desarrollarse satisfactoriamente, quizá debido a cierta resistencia frente al antibiótico.

En este caso se preparó medio cultivo con las mismas cantidades antes mencionadas, pero se agregó este otro tipo de antibiótico, ya que con el primero la mayoría de hongos resultaron muy susceptibles, lo cual inhibió el crecimiento de al menos seis de ellos.

La ampicilina es un producto bactericida de amplio espectro que funciona para bacterias Gram Negativas y Gram Positivas. Con esta sustancia y con el fungicida benomil, se logró aislar el hongo *Fomitella supina*; todos los demás hongos se inhibieron

totalmente y, en su lugar, surgieron agentes contaminantes. Se continuaron sembrando los hongos en este medio, pero ninguno dio resultados positivos. Una posible explicación a lo anterior podría ser que el antibiótico o bien el fungicida de alguna forma estaban influyendo fuertemente en el desarrollo de los basidiomycetes, es decir estarían causando cierta inhibición, permitiendo el desarrollo de otros hongos imperfectos y bacterias.

Tomando lo anterior como base de posible explicación, se procedió a probar el medio de cultivo llamado malta-agar, sin antibiótico ni fungicida.

El medio malta-agar contiene:

- Extracto de malta	2 g
- Agar	15 g
- Agua destilada	1 000 ml

Las pruebas con este medio fueron bastante satisfactorias, ya que permitió el crecimiento de tres hongos más: *Corioloopsis polyzona*, *Pycnoporus sanguineus* y *Laetiporus sulphureus*.

En resumen, con respecto de los medios de cultivo utilizados se podría decir que el medio que dió mejores resultados fue el malta-agar, aunque los dos son bastante utilizados.

El malta-agar en este caso particular fue mejor, tal vez porque no contenía sustancias que de una u otra forma pudieran inhibir el desarrollo de un basidiomycetes.

Cultivo de los hongos aislados

Para llevar a cabo la siembra de cada hongo, se coge una navajilla y se corta un trozo del cuerpo fructífero que posee esporas; además, se corta un pequeño trozo del sustrato donde se halla el hongo, ya que este posee micelio que puede extenderse sobre el medio de cultivo. Con unas pinzas de punta fina previamente esterilizadas se toman los trocitos del

hongo y del sustrato y se colocan en el medio de cultivo. Se siembran dos cajas de Petri por cada hongo.

Esto se realizó aproximadamente cada cuatro días cuando no se observó crecimiento micelial sino que únicamente se hallaban organismos contaminantes. Las cajas de petri se guardan en bolsas plásticas y se colocan en la incubadora que está aproximadamente a 24 °C.

Observación al microscopio

En general la presencia de fíbulas o hifas muy visibles es una característica de los basidiomycetes (hongos pudridores) y sirven para identificar a los miembros de la subdivisión Basidiomycotina.

Para tener plena seguridad al desechar una caja de Petri con medio de cultivo, ésta debe ser observada exhaustivamente. Si no se está seguro, se toman trozos de organismos que se encuentren creciendo dentro de la caja, es decir se coge micelio, sea de un organismo contaminante o no, y se monta sobre un portaobjetos; se le agrega una disolución de hidróxido de potasio al 3% para dilatar las hifas y que sean más visibles; se coloca un cubreobjetos y se observa al microscopio.

El anterior procedimiento al microscopio se debe realizar diariamente y varias veces dentro de una misma caja de Petri; esto, para asegurarse de que no presenten crecimiento micelial, antes de desecharlas.

Identificación de los hongos en el laboratorio

Las muestras colectadas en el campo descritas en el Cuadro 4 se llevaron al laboratorio de Micología de la Universidad de Costa Rica, donde los hongos fueron identificadas con la asesoría de la Dra. Carranza. Los nombres científicos se anotaron junto con el número de colecta de hongo. Luego los hongos fueron sembrados en cajas de Petri con un medio de cultivo adecuado para su aislamiento.

Medida del crecimiento micelial

Los hongos aislados se sembraron sobre un medio de malta-agar en cajas de Petri, en cuyo envés fue marcado un punto en el centro, a partir del cual se midió el crecimiento radial del hongo. Se inocularon dos cajas de Petri por cada hongo; el inóculo se colocó en el centro de la caja de manera que coincidiera con el punto marcado en el envés de las

Cuadro 5
Crecimiento micelial promedio en milímetros cada dos días, de cinco hongos creciendo sobre malta-agar.

Hongos	Crecimiento micelial promedio en mm. cada dos días						
	2	4	6	8	10	12	14
Trametes villosa	2.0	7.0	12.0	18.5	24.0	31.0	44.5
Coriopsis polyzona	1.0	5.5	10.5	16.0	21.0	29.0	41.0
Pycnoporus sanguineus	2.0	7.0	13.0	19.5	24.5	32.5	43.5
Fomitella supina	1.0	6.0	9.5	15.5	21.5	28.0	40.5
Laetiporus sulphureus	1.5	5.5	9.5	16.5	23.5	30.0	39.5

Nota: Los datos de este Cuadro describen el patrón de crecimiento de cada uno de los hongos aislados sin ninguna inhibición. De modo que su importancia radica en el hecho de que permite establecer, por comparación de crecimiento, el grado de inhibición causado por cualquier sustancia.

cajas. Las mediciones se realizaron diariamente por quince días, utilizando una regla calibrada en milímetros. El Cuadro 5 presenta los resultados obtenidos cada dos días.

Métodos para evaluar la eficiencia fungicida del líquido piroleñoso

La eficiencia del fungicida, o capacidad para inhibir el desarrollo de hongos pudridores de madera, es muy útil en la evaluación de las propiedades preservantes de una sustancia. En este estudio fue evaluada por medio de dos tipos de experimentos:

- Experimentos en cajas de petri o pruebas *in vitro*
- Experimentos con madera o pruebas *in vivo*

Experimentos en cajas de petri o pruebas *in vitro*

La toxicidad del líquido piroleñoso a hongos pudridores de maderas fue evaluada por medio de la prueba del agar, en la cual pequeñas cantidades del líquido piroleñoso se agregaron a un medio nutritivo de malta-agar y se determinó la cantidad mínima necesaria para inhibir el crecimiento de los hongos.

Se emplearon los hongos pudridores de madera: *Corioloopsis polizona*, *Fomitella supina*, *Pycnoporus sanguineus* y *Trametes villosa*, todos de pudrición blanca. El hongo *Laetiporus sulphureus*, de pudrición café, no se incluyó, pues se contaminó seriamente y, a pesar de los esfuerzos realizados, no fue posible purificarlo.

Además, como sistema de comparación, se empleó el preservante comercial creosota.

Experimentos con madera o pruebas *in vivo*

Las pruebas fungicidas en madera se realizaron sometiendo pequeños

bloques de madera (2,5 cm x 2,5 cm x 2,5 cm) impregnados con el líquido piroleñoso (método de baño caliente y frío), secos y de masa conocida, al ataque de hongos pudridores de madera, que crecen activamente en frascos de vidrio de boca ancha en un medio de malta-agar. Después de un período de exposición de 16 semanas, bajo condiciones controladas, se esperaba examinar los bloques y determinar el grado de ataque de los hongos por medio de la pérdida de peso seco.

Se emplearon frascos de vidrio esterilizados de boca ancha (5 cm) y rectangular (6 cm x 6cm x 15 cm), con tapas de metal sin empaque de cartón. Se les agregó el medio de cultivo de malta-agar, preparado y esterilizado, como se describió en la sección de aislamiento de los hongos. La cantidad agregada es la necesaria para que, cuando el frasco se coloca acostado e inclinado, se cubra la mayor superficie posible en la botella. Los frascos inclinados se dejan reposar por dos horas, se colocan en grupos de tres en bolsas plásticas y se guardan en la refrigeradora hasta el momento de la inoculación.

Luego se toma el inóculo que consiste de trozos de malta-agar con micelio del hongo, procedente de cajas de Petri que contienen los hongos aislados y se inocula cada una de las botellas.

Los frascos ya inoculados y con sus tapas flojas a un cuarto de vuelta, se colocaron en una incubadora a 28 °C, hasta que el hongo creciera. Finalmente se colocaron los bloques de madera a probar.

Al igual que en el caso de las pruebas *in vitro*, en estas pruebas *in vivo* se utilizó también el preservante comercial creosota, como sistema de comparación.

Se realizaron pruebas por triplicado para muestras diferenciadas de albura y duramen de teca y laurel, y para muestras no diferenciadas de jaúl y ceiba.

Como muestras testigo o blanco, se expusieron bloques de madera sin ningún tratamiento y sin ningún hongo, a las condiciones generales de la prueba, para observar la variación que sufre la madera en forma natural. En este caso, se coloca un portaobjetos esterilizado sobre el medio de malta-agar y con pinzas esterilizadas, se introducen los bloques de madera al frasco de vidrio. En cada uno de tres frascos se colocan dos bloques diferenciados de albura y duramen de teca y laurel. En el caso de jaúl y ceiba, en cada uno de los frascos, se colocaron dos bloques de madera sin diferenciar.

Preservación de las muestras de madera (Institutos de Pesquisas Tecnológicas s/f)

La preservación de las muestras de madera se realizó sumergiendo los bloques de madera en medio del líquido piroleñoso a una temperatura de 80 °C durante seis horas; se dejaron luego enfriar los bloques en ese medio sin calentar, durante 12 horas.

Durante el período inicial de seis horas, el aire contenido en las células de la madera se dilata bajo la acción del calor y es parcialmente expulsado. Durante el período de enfriamiento, el aire de las células se contrae, generando así una succión suplementaria de producto hacia el interior de la madera.

Método para evaluar la eficiencia antitermítica del líquido piroleñoso

Se evaluó la eficiencia antitermítica del líquido piroleñoso frente a termitas colectadas en la zona de Turrialba, de acuerdo con el estándar IPT 1157 Parte D D2 (IPT). (Russell 1956)

Se expusieron pares de probetas de madera de jaúl (2,3 cm x 0,6 cm x 7,0 cm) preservada con líquido piroleñoso y sin preservar, a la acción de cuarenta

termitas “obreros”. El estándar establecía treinta y ocho “obreros” y dos “soldados”; sin embargo, las termitas “soldados” colectados no sobrevivieron en el laboratorio.

Las probetas se unen entre sí en pares por las aristas de 7,0 cm y, sobre ellas, en la parte central, se fijan mangas de vidrio (frascos de vidrio invertido), dentro de las cuales se colocan las termitas.

Se montaron seis de esos conjuntos en cada uno de los casos: madera preservada y sin preservar.

Luego, de acuerdo con el estándar, la exposición de los conjuntos a las termitas, debe ser de cuarenta y cinco días a 27 °C. En este caso, el período de exposición se modificó a cuarenta días, también a 27 °C.

Preservación de las muestras de madera

Al igual que en el caso de las pruebas *in vitro* anteriores, se empleó el método de baño caliente y frío para impregnar las probetas.

Debe señalarse que no fue posible obtener una impregnación totalmente homogénea de las probetas.

Resultados y discusión

Resultados y discusión de las pruebas de eficiencia fungicida del líquido piroleñoso

Como ya se mencionó, el líquido piroleñoso está constituido de dos fases: una acuosa, que la literatura describe como de ningún interés en el campo de la preservación, y una orgánica, constituida por asfaltos y una fase acídica que se considera la responsable de la acción preservante.

Si bien es cierto originalmente, se planeó separar estas dos fases; la imposibilidad práctica de separar la emulsión en el

líquido piroleñoso empleado, así como el hecho de que en Costa Rica se emplea el líquido piroleñoso emulsionado para preservar, fue lo que condujo a realizar la evaluación del líquido piroleñoso sin separar.

Este aspecto debe enfatizarse, pues constituye una diferencia significativa entre este estudio y otros encontrados en la literatura.

Resultados y discusión de los experimentos en cajas de Petri o pruebas *in vitro*

Con el propósito de determinar el límite de toxicidad del líquido piroleñoso, se probaron concentraciones de 5,10 y15 por ciento por volumen de líquido piroleñoso en el medio de cultivo de malta-agar. Estas concentraciones no permitieron el crecimiento de los hongos *Coryolopsis polizona*, *Fomitella supina*, *Pycnoporus sanguineus* y *Trametes villosa*. A estas altas concentraciones se observó una contaminación excesiva de los medios de cultivo. Además, posiblemente por lo significativo del factor de dilución, no fue posible que el medio solidificara.

Luego se ensayaron concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 por ciento, volumen por volumen de líquido

piroleñoso, las cuales permitieron el crecimiento vigoroso de los hongos de prueba. También se observó contaminación de los cultivos, pero en mucho menor grado que en el caso anterior.

Habiéndose probado concentraciones muy altas y muy bajas, se procedió finalmente a probar concentraciones de 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 por ciento, volumen por volumen de líquido piroleñoso, y se observó que los hongos *Coriolopsis polizona* y *Fomitella supina* no crecieron en las concentraciones probadas, mientras que los hongos *Pyconoporus sanguineus* y *Trametes villosa* se desarrollaron débilmente a concentraciones de 3,5 por ciento, pero ya no crecieron a concentraciones de 4 por ciento.

En el Cuadro 6 se resumen los resultados obtenidos.

El desarrollo de los hongos fue evaluado por una estimación diaria de la medida de crecimiento del micelio del hongo en el medio de cultivo con líquido piroleñoso, en comparación con valores de referencia de la medida del crecimiento del micelio (Cuadro 5).

Como sistema de comparación, se hicieron ensayos paralelos empleando

Cuadro 6
Desarrollo de cuatro hongos pudridores de madera en cajas de Petri utilizando diferentes concentraciones de líquido piroleñoso por seis semanas.

Hongo	Concentración del líquido piroleñoso (%v/v)											
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10,0	15,0
<i>Coryolopsis polizona</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fomitella supina</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Trametes villosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(+) = Hubo crecimiento del hongo a partir de la segunda o tercera semana aproximadamente, después de sembrado el hongo.
(-) = No hubo crecimiento del hongo al cabo de seis semanas.

creosota comercial, un preservante con una eficiencia fungicida comparable con la de la fracción orgánica del líquido piroleñoso, de acuerdo con la literatura (Findlay 1943). Se encontró que en la proporción de 0,1 por ciento volumen de creosota por volumen de medio de cultivo, todos los hongos crecieron lentamente al principio, pero semanas después su crecimiento fue normal. En estas pruebas los hongos permanecieron expuestos también por seis semanas. Esta comparación con creosota, debe considerarse con reserva, debido a que:

- A pesar de que se utilizó aceite mineral como disolvente de incorporación al medio de cultivo, la distribución de la creosota no fue uniforme, sino que se concentró en ciertas zonas de las cajas de Petri.
- Se duda de la calidad de la creosota empleada, que fue comprada a un proveedor en Costa Rica; esto porque, según informes de la literatura, la verdadera creosota aún a niveles de concentración tan bajos como el empleado (0,1 por ciento), es altamente tóxica a los hongos pudridores de madera.

Los valores de concentración del líquido piroleñoso con respecto del medio de cultivo, corresponden a los mililitros del líquido piroleñoso total, incluyendo la fase orgánica: asfaltos y fase acídica y la fase acuosa. De manera que, para poder comparar estos valores con los que aparecen en la literatura, que emplean exclusivamente la fase orgánica para realizar los experimentos *in vitro*, es necesario convertir los valores de porcentaje del líquido piroleñoso total en valores de porcentaje de la fracción orgánica. Suponiendo un ámbito de concentración 40% a 65% para la fracción orgánica de acuerdo con la literatura (Findlay 1943; Schwartz y Don 1987; Santona y Assumpção 1971; Doat y Petroff 1975), y considerando los límites de toxicidad de 3% y 4 % obtenidos en el Cuadro 6, es posible obtener el Cuadro 7, que describe los ámbitos de valores de toxicidad de la fracción orgánica del líquido piroleñoso frente a varios hongos pudridores de la madera.

Los valores de toxicidad en este estudio se realizaron en términos de mililitros del piroleñoso total, que se convierte en mililitros de fracción orgánica, por 100 mililitros de medio. Los valores que aparecen en la literatura están expresados así: 0,08. 0,16 % gramos de

Cuadro 7				
Valores tóxicos del líquido piroleñoso calculados como mililitros de la fracción orgánica por 100 ml del medio de cultivo.				
Preservantes	Valores de toxicidad frente al hongo (% v/v).			
	<i>Coriopsis polizosa</i>	<i>Fomitella supina</i>	<i>Pycnopourus sanguineus</i>	<i>Trametes villosa</i>
Fracción orgánica del líquido piroleñoso (40-65 % del L.P.T.)	0,01-0,02	0,01-0,02	0,02-0,03	0,02-0,03

L.P.T = líquido piroleñoso total.

fase orgánica por 100 mililitros de medio (6); 0,1.-0,75 % gramos de fase orgánica por 100 gramos de medio (Schartz y Deon 1987).

Comparando directamente los valores arriba mencionados, tal como lo hacen otros autores, es posible afirmar, con base en estos experimentos *in vitro*, que el líquido piroleñoso empleado en este estudio presenta un nivel de toxicidad adecuado frente a los hongos de prueba.

Obviamente, que después de esta prueba preliminar, deben realizarse experimentos *in vivo*, dado que como se verá en la sección siguiente, no fue posible en este estudio obtener resultados aceptables. Además, es necesario realizar experimentos del tipo cementerio de estacas, que permitan corroborar esta toxicidad preliminar encontrada.

Por otro lado, considerando las diferentes maderas, deben realizarse estudios de su capacidad de impregnación, con el propósito de determinar si absorberán de un 3 a un 4% de líquido piroleñoso total.

Resultados y discusión de los experimentos con madera o pruebas *in vivo*

Como se mencionó en la sección de Métodos, el período de exposición de los bloques de madera a los hongos pudridores originalmente planeado era de 16 semanas. Sin embargo, a la altura de la sexta semana se presentó un problema de contaminación total en los frascos de vidrio con los bloques de prueba, que desembocó en la pérdida de gran cantidad de frascos.

Específicamente, los frascos que contenían madera tratada con líquido piroleñoso y expuestos a los hongos *Fomitella supina* y *Pycnoporus sanguineus* por un período de diez semanas debieron ser descartadas, ya que se presentó una contaminación

excesiva por otros hongos y bacterias que eliminaron al hongo en estudio. Además se descartaron todas las botellas que contenían maderas sin tratar y tratada con líquido piroleñoso y con creosota, que se empleó también como sistema de comparación, expuestas al hongo *Corioloopsis polizona*. Ello, debido a que, a la altura de la cuarta semana de exposición, los organismos contaminantes eran abundantes y se cree que las bacterias eliminaron al *Corioloopsis polizona*.

Debido a problemas de contaminación del hongo *Trametes villosa*, y a pesar de que se inocularon al menos cincuenta frascos, fue prácticamente imposible obtener frascos inoculados sin contaminación; por tal razón, este hongo no se incluyó en los experimentos *in vivo*. Tampoco se incluyó el *Laetiporus sulphureus*, pues no fue posible obtenerlo puro después de su contaminación.

Después de la contaminación generalizada de los hongos aislados en este estudio, se hizo un intento más de aislarlos, llevándolos de nuevo a la Universidad de Costa Rica, esta vez al laboratorio de Microbiología. Después de múltiples pruebas empleando diferentes metodologías de purificación, no fue posible purificarlos. En este punto procedía, o bien iniciar el proceso total de colecta, identificación y aislamiento de los hongos, lo cual no era factible, o bien obtener los hongos de algún centro internacional especializado y reconocido. Se realizaron gestiones en ese sentido; sin embargo, tanto los costos como el tiempo necesario para traer los hongos hicieron imposible tal opción.

Cuando estos hongos fueron llevados de nuevo a la Universidad de Costa Rica para su purificación, ya se disponía de una retorta de laboratorio que permitió obtener líquido piroleñoso fresco a partir de la carbonización de roble. Se realizaron entonces pruebas preliminares

de cultivos *in vitro* para evaluar la eficiencia fungicida del líquido piroleñoso fresco. Estas pruebas no cuantificaron los niveles de toxicidad; además, los hongos nunca estuvieron completamente puros. Sin embargo, parecen indicar un mayor nivel de toxicidad del líquido piroleñoso fresco.

Resultados y discusión de la evaluación de la eficiencia antitermítica del líquido piroleñoso

Con respecto de la eficiencia antitermítica, los experimentos realizados demostraron que el líquido piroleñoso protege a la madera del ataque de termitas en forma regular.

De acuerdo con la literatura (Schwartz y Deon 1987; Russell 1956) y con el estándar empleado (Schwartz y Wone 1986), la eficiencia antitermítica o termicida fue evaluada con un sistema cualitativo (EN 118) que emplea el siguiente sistema de clasificación:

- 0 : no hay ataque. Ningún desgaste
- 1: Intento de ataque. Desgaste superficial
- 2 : Ataque ligero. Desgaste moderado
- 3 : Ataque medio. Desgaste acentuado
- 4 : Ataque fuerte. Desgaste profundo.

En el Cuadro 8 se describe cualitativamente, el ataque observado en la madera sin preservar y preservada, para cada una de las seis muestras empleadas en cada caso. Además, se clasifica cada una de las muestras, de acuerdo con la escala anterior.

Además, al final del experimento se determinó el número de termitas muertas en cada sistema, y se obtuvo un promedio de 59,2 % en el caso de madera preservada con líquido piroleñoso y un 42,3 % en el caso de madera sin preservar. De acuerdo con el ASTM (Instituto de Pesquisas Tecnológicas s/f) un ámbito de 34 a 66 % de individuos muertos corresponde a un nivel de ataque moderado.

La presencia de túneles o agujeros que penetran las piezas de madera indican vigor de los insectos. Estos túneles se

presentaron en mayor grado en la madera sin tratar y se presentaron en menor grado en la madera tratada con líquido piroleñoso, especialmente en las zonas de baja penetración del preservante. A este efecto se le denomina “posición mayoritaria de las termitas”, y sugiere una respuesta de las termitas a un efecto antagónico, como por ejemplo la repelencia a un preservante. (Ibid.).

Conclusiones

Con respecto de la eficiencia fungicida del líquido piroleñoso, las pruebas micológicas en cajas de Petri o experimentos *in vitro*, demostraron la toxicidad del líquido piroleñoso frente a los hongos pudridores de madera *Coriopsis polizona*, *Fomitella supina*, *Pycnoporus sanguineus* y *Trametes villosa*.

Los valores límites de toxicidad fueron de 3% volumen de preservante: líquido piroleñoso por volumen de medio, frente a los hongos *Coriopsis polizona* y *Fomitella supina*; y fueron de 4% volumen de preservante: líquido piroleñoso, por volumen de medio, frente a los hongos *Pycnoporus sanguineus* y *Trametes villosa*. Estos valores de toxicidad, una vez convertidos en su equivalente de contenido de fracción orgánica, coinciden con valores de toxicidad adecuada, encontrados en la literatura.

Infelizmente, la toxicidad encontrada por medio de las pruebas *in vitro* no pudo ser corroborada por medio de experimentos con madera, o pruebas *in vivo*, debido a un serio problema de contaminación que no se pudo resolver.

Con respecto de la eficiencia antitermítica, los experimentos realizados demostraron que el líquido piroleñoso protege a la madera del ataque de termitas en forma regular.

Cuadro 8
Descripción cualitativa y clasificación cuantitativa del ataque por termitas en madera sin preservar y en madera preservada con líquido pireleñoso.

# Muestra	Daño superficial	Daño interno	Valor estimado del ataque (EN-18)
1	Se observa el inicio de un canal que no llega a ser profundo.	Presenta ataque severo con un agujero mediano no atraviesa la probeta	3,5
2	Severo. Se observa una superficie áspera y agujeros pequeños, que no llegan a ser profundos. Lo anterior se observa en las 2 probetas.	Se presenta el mismo patrón del daño superficial, con asperezas y canales medianos, que no atraviesan la probeta.	3,5
3	Severo. Agujeros alargados longitudinales, medianos. Superficie áspera; esto en una probeta. En la otra probeta el ataque es leve y solo hay 2 agujeros muy pequeños.	Se presenta el mismo patrón del daño superficial, con asperezas y canales medianos, que no atraviesan la probeta.	3,5
4	Severo. Ataque concentrado en una de las probetas. Superficie bastante áspera e irregular, presenta 2 agujeros pequeños.	Debajo de los agujeros, aparecen agujeros medianos y pequeños, en general se presenta un deterioro intermedio de la probeta.	3,5
5	Severo. Especialmente en una de las probetas, presenta 2 agujeros pequeños y 2 canales superficiales medianos; uno de los agujeros atraviesa la probeta.	Presenta 2 agujeros pequeños y un canal mediano que se inicia en uno de los agujeros pequeños, pero el ataque no es severo.	3,5
6	Severo. Ataque en ambas probetas, superficie irregular. Una de las probetas presenta un agujero pequeño pero que atraviesa la probeta. La otra probeta tiene 2 agujeros pequeños uno profundo y el otro superficial.	No se presenta daño severo, con excepción de un agujero mediano producido bajo el agujero superficial.	3,5
7	Desgaste concentrado a lo largo del eje longitudinal. No hay desgaste superficial áspero. Presencia de agujero grande.	Formación de agujeros (4 pequeños y 3 medianos) concentrados en la zona de baja absorción del preservante. El ataque atraviesa la probeta.	2,5
8	Ataque concentrado en una de las probetas con 2 agujeros superficiales medianos en una probeta.	A lo largo de los anteriores agujeros se observan canales grandes longitudinales.	3,0
9	Se presenta mayor ataque en una de las probetas; hay un agujero grande y profundo y 2 pequeños. El agujero grande no atraviesa la probeta; uno de los pequeños si la atraviesa, el otro no.	El agujero grande provocó canales internos longitudinalmente grandes y el ataque es mayor donde hay escasa penetración del preservante. Bajo el agujero pequeño que atraviesa la probeta existe daño severo.	2,5
10	Únicamente en una de las probetas, existe un agujero ancho, grande y profundo, pero no alcanza a atravesar la probeta totalmente.	Se observan 2 agujeros pequeños por debajo del agujero grande superficial. Además se originan 4 agujeros que no atraviesan la probeta; van longitudinalmente.	3,0

Continúa en la siguiente página...

11	Se concentra en una de las probetas. Hay 2 agujeros, uno mediano y ancho. No atraviesan la probeta.	Por debajo del agujero ancho se producen 3 agujeros acanalados en dirección longitudinal, donde casi no se absorbió preservante.	2,5
12	En una de las probetas hay un agujero acanalado longitudinal y mediano. En la otra probeta hay un agujero muy pequeño.	En la probeta con el agujero mediano se observa internamente un agujero acanalado longitudinalmente grande, en la zona donde hubo poca penetración del preservante. En la probeta con el agujero pequeño se produce un agujero grande en la misma zona de baja penetración.	2,5

Nota: Las muestras 1 a 6 corresponden a madera sin preservar y 7 a 12 corresponden a muestras preservadas con el líquido pireloñoso.

Referencias bibliográficas

- Alvarado, F. Memoria Estadística del Sector Energía. Dirección Sectorial de energía, Dic. 1988.
- Browning, B.L. (Ed.). "The Chemistry of Wood" Interscience Publishers, 1963.
- Carranza, J.; Saénz, J.A. Wood Decay Fungi of Costa Rica. "Mycotaxon" 19, 1984.
- De Castro, P.F.; Petrocchi Corre, L.C.; Da Silva Franco, W. "Obtencão do Alcatrão Vegetal em Fornos de Alvenaria e sua Utilização Como Combustível". Bol. ABM-Río de Janeiro Vol 2. 1982.
- Doat, J.; Petroff, G. "La Carbonisation des Bois Tropicaux: Essais de laboratoire et Perspectives Industrielles". Revue Bois et forêts des Tropiques, N° 159. Janvier-Fevrier, 1975.
- Findlay, W.P.K. "Wood Tar as a Preservative For Timber". Empire Forestry Journal 22, pp. 151-153. 1943.
- Gilbertson R.L. y L. Ryvarden. "North American Polypores". FungiFlora. Vol 2 Wrightoporia. Gronlands Grafiske A/S. Oslo, Norway. 438-885 pp. 1987.
- Gjovik, L. R. y Micklewright, J. T. "Wood Preservation: How important is the Wood Treating Industry". Southern Lumberman. December 1982.
- Instituto de Pesquisas Tecnológicas. "Ensayo Acelerado de la Resistencia Natural de Madera Preservada al Ataque de Termitas del Género *Cryptotermes* (FAM KALOTERMIDAE) (método desarrollado y utilizado por la división de maderas del IPT)." Publicación IPT 1157 Parte D D2. 19.
- Nobles, K.M. "Studies in Foresta Pathology IV. Identificaction of Cultures of Wood-Rotting Fungi". Canadian Journal Research 26: 281-431, 1945.
- Petroff, G; Doat, J.; Pyrolyse des Bois sur les Produits de Distillation". Revue Bois et Forêts des Tropiques, N° 177, Janvier-Fevrier, 1978.
- Russell, P. "A Selective Medium for the Isolation of Basidiomycetes". Nature 177:1038-1039. 1956.
- Santona, M.C., Assumpção, R.M.V. "Pirolise de Madeiras Matérias Primas, Productos, Aplicacões." IPT, Publicacão 940. São Paulo. 1971.
- Schwartz, R.; Deon, G. "The Use of the By-Products Wood Pyrolysis in Wood Preservation." International Symposium on Wood and Pulping Chemistry". Paris 1987.
- Schwartz, R.; Wone, S.N. "Les Goudrons Pyroligneus dans la Preservation du Bois". Revue Bois et Forêts des Tropiques, N° 212, 2° trimestre. 1986.
- Stalpers, J.A. "Identification of Wood-Inhabilitating Aphylophorales in Pure Cultures". Studies in Mycology 16. Central Bureau. Ver Schimmelcultures- Baarn Orlando. 248 pp. 1978.

Taylor, J.A. "Wood Preservation in Latin America" American Wood Preservers Association. 1977.

Tsao, P. H. "Selective media for Isolation of Pathogenic Fungi". Ann. Rev. Phytopathol. 8: 157-159. 1970.

Vergnet, A.M.; Villeneuve, F. "Techniques Analytiques Applicables aux Liquides et Gaz de Pyrolyse de la Biomasse

Tropicale."Revue Bois et Forêts des Tropiques, N° 205,3 trimestre. 1984.

Villeneuve, F.; Huard, T.; Essayegh, M.; Desbene, P.L."Stabilisation et Utilisation des Huiles Pyroligneuses". 4th European Conference Biomass for Energy and Industry. Orleans (France). 1987.

Wood Handbook: Wood as an Engineering Material. "Wood Preservation" USDA Agriculture Handbook N° 72,1974.